



# **DINÂMICA DO ARSÉNIO NO SISTEMA SOLO-ÁGUA-ARROZ**

**João da Cruz Carvalho**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
**Engenharia Agronómica**

Orientador: Doutora Maria Manuela Silva Nunes Reis Abreu

Co-orientador: Doutora Maria Manuela Antunes Gomes da Silva

## **Júri:**

Presidente: Doutora Maria José Antão Pais de Almeida Cerejeira, Professora Associada com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutora Maria Manuela Silva Nunes Reis Abreu, Professora Catedrática do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

Doutora Maria Clara Ferreira Magalhães, Professora Auxiliar com agregação da Universidade de Aveiro;

Doutora Ana Cristina Delanaud Caperta, Investigadora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Lisboa, 2013

## **Agradecimentos**

A realização desta Dissertação de Mestrado só foi possível graças à colaboração e ao contributo, de forma direta ou indireta, de várias pessoas, às quais gostaria de agradecer profundamente, em particular:

à Professora Dra. Manuela Abreu pelo acompanhamento, disponibilidade e ajuda indispensável na resolução dos pequenos e dos grandes problemas com que me fui deparando no decurso do trabalho;

à Professora Dra. Manuela Silva pelo aconselhamento, pela receção no laboratório e pelo apoio importantíssimo ao bom termo deste trabalho;

à Professora Dra. Sara Amâncio pela oportunidade de participar neste projeto e pela confiança que depositou em mim;

à Professora Dra. Wanda Viegas pela enorme simpatia e espírito inventivo;

à Professora Dra. Clara Magalhães, pela hospitalidade num laboratório alienígena para mim;

à Diana, pela prontidão, pelo conhecimento, e por se ter assegurado sempre de que tinha todas as condições no laboratório;

à Augusta, pelo conhecimento e disponibilidade absoluta; à Daniela, pelo companheirismo e pela ajuda nas tarefas mais enfadonhas; à Ana Pires, pela palavra amiga e pela compreensão em todas as circunstâncias;

à Professora Dra. Ana Paula Ramos, à sua incrível disponibilidade e generosidade. Sem elas não teria chegado ainda a este ponto;

aos meus Pais, pela educação, amor e aconselhamento que fizeram de mim o que sou hoje, e pelas portas que me abriram para um futuro melhor. Por serem o meu orgulho e a minha referência em todos os momentos;

à minha irmã, por me ter defendido sempre e por me fazer falta de quando em vez;

à Tânia por ser o meu porto de abrigo neste e noutros trabalhos da vida. Pelas noites em que os olhos vermelhos lhe desmentiam a vontade de permanecer junto a mim quando a sua presença era a mais essencial das luzes na noite;

A todos, o meu obrigado!

## **Resumo**

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um alimento consumido em grande escala mundialmente especialmente no continente asiático, sendo uma das maiores fontes de arsénio, um importante carcinogénio. Embora este problema não seja ainda uma questão de saúde pública em Portugal, a preocupação com a concentração de arsénio no arroz é crescente. Foram analisadas experimentalmente amostras de solo e água de vários arrozais em relação a vários parâmetros geoquímicos para avaliar a importância de cada um deles na concentração de arsénio no grão de arroz. Foi observada uma correlação entre o arsénio no grão e o arsénio na fração disponível e o carbono orgânico no solo. Foram também analisadas as diferenças a nível citogenético entre células de ápices radiculares de plântulas provenientes de lotes com concentrações variadas de arsénio no grão. Foram observadas algumas alterações citogenéticas nas células do lote com a maior concentração de arsénio no grão.

## **Palavras-chave:**

Arroz, Arsénio, Biogeoquímica, Citogenética

## **Abstract**

Paddy rice (*Oryza sativa* L.) is a staple food consumed worldwide especially in Asia and one of the major sources of dietary arsenic, an important carcinogen. The concentration of arsenic in rice is becoming an important concern in Portugal. Soil and water samples from several paddy fields were analyzed regarding a range of geochemical parameters in order to assess their importance to the concentration of arsenic in rice grains. There was a correlation between the content of arsenic in grains and the available fraction of arsenic and the organic carbon in the soil. Some cytogenetic differences were observed in root tip cell of seedlings grown from grains with different arsenic concentrations like some cytogenetic alterations in the seedlings with higher arsenic content.

## **Keywords:**

Arsenic, Paddy Rice, Biogeochemistry, Cytogenetics

## **Introdução**

A contaminação de águas subterrâneas e solos com arsénio, um elemento carcinogénico, é um dos maiores problemas sanitários para as comunidades humanas a nível mundial. Em algumas áreas do Mundo, particularmente na Ásia, não é apenas o consumo de água contaminada que contribui para a bioacumulação de arsénio, mas também a ingestão de arroz, já que esta planta revela uma grande eficiência na absorção, translocação e acumulação de arsénio

Em Portugal, ao contrário do que sucede em alguns países da Ásia, o arsénio presente no arroz ainda não é um problema de saúde pública. No entanto, a preocupação sobre este assunto é crescente, especialmente face às exigências de mercado e ao estabelecimento de limites não só legais como também relacionados com o controlo de qualidade.

## **1. Revisão Bibliográfica**

### **1.1.A Cultura do Arroz**

O arroz é uma fonte extremamente importante de nutrição a nível mundial, sendo o alimento predominante em muitos países do Mundo, especialmente na Ásia, na América do Sul e em África. Estima-se que o arroz providencie cerca de 20 % da dieta energética mundial diária e aproximadamente 15 % da ingestão proteica diária, sendo a mais importante fonte de tiamina, riboflavina e niacina a nível global (FAO, 2004). Em países em fase de desenvolvimento o consumo de arroz constitui a principal fonte de nutrição, sendo responsável por mais de dois terços da ingestão calórica total e aproximadamente 60 % da ingestão de proteínas (Meharg & Zhao, 2012).

A produção mundial de arroz cresceu de cerca de 200 milhões de toneladas em 1960 para mais de 680 milhões de toneladas em 2011. Os maiores produtores mundiais em 2011 foram a China, a Índia e a Indonésia (FAO, 2012). A produção de arroz nestes três países equivale a cerca de dois terços da produção mundial anual. A maior produtividade encontra-se na China – com produções de 6,59 toneladas por hectare –, sendo a produtividade média de cerca de 4,3 toneladas por hectare em 2010 (FAO, 2012). A produção nacional aproxima-se das 1250 mil toneladas anuais (FAO, 2012).

No nosso clima mediterrânico, o arroz é maioritariamente cultivado em condições de regadio. A maior parte das explorações agrícolas especializadas caracteriza-se por ter um tamanho médio a grande e por serem intensamente mecanizadas, embora haja exceções. A sementeira direta e a utilização de produtos fitossanitários na proteção da cultura são práticas vulgarmente aceites na orizicultura (INIA, 2000).

Atualmente em Portugal o arroz é cultivado em grande escala na bacia do rio Mondego, do rio Sado, dos afluentes do rio Tejo, em represas a Sul do país e em algumas bacias da Beira Baixa. Uma grande proporção do arroz cultivado em Portugal corresponde a variedades de grão carolino, mais arredondado, embora também se produzam grandes quantidades de arroz agulha, de grão caracteristicamente alongado. Ainda assim, as variedades de arroz mais consumidas em Portugal são as de arroz agulha, devido à maior facilidade que apresentam na confeção culinária (INIA, 2000).

O consumo humano é a principal finalidade do cultivo de arroz – cerca de 85% da produção deste cereal tem esse fim.

O consumo de arroz a nível mundial pode ser agrupado em quatro grupos de países com médias entre 0,9 e 650 g/pessoa/dia, segundo Meharg & Zhao (2012) com base nos dados obtidos pela FAO (2004). Os países que registam maior consumo de arroz são igualmente grandes produtores e localizam-se essencialmente na Ásia (com destaque para Myanmar, Laos, Vietname, Camboja e Bangladesh), em África e na América do Sul. Em alguns países asiáticos – como o Bangladesh ou o Myanmar – o consumo de arroz diário varia entre 400 a 500 g de arroz/dia *per capita* (Meharg *et al.*, 2009). No Reino Unido assim com na maior parte dos países europeus ocidentais estima-se que o consumo diário *per capita* seja de cerca de 10 g/dia (Meharg, 2007), destacando-se Portugal como o país europeu que apresenta um maior consumo diário *per capita* (cerca de 40 g/dia).

A ausência de glúten no arroz, bem como a sua textura e sabor suaves fazem também deste produto agrícola a base de muitos produtos alimentares para crianças em fase de transição de alimentos líquidos para alimentos sólidos. Por ser um produto natural sem glúten, o arroz é uma peça essencial da dieta das pessoas com intolerância ao glúten (0,75% da população mundial). Também o leite de arroz pode ter algumas vantagens em relação ao leite de soja na perspetiva da substituição do leite animal por leite vegetal na alimentação de pessoas com intolerância à lactose uma vez que tem um sabor mais suave e não possui os níveis elevados de fito-hormonas que tipificam o leite de soja (Sun *et al.*, 2009).

## **1.2.Exposição do arroz ao arsénio**

Em algumas zonas do Mundo, o arsénio presente nas águas subterrâneas leva a uma elevada bioacumulação na população humana, através do consumo direto da água contaminada. No entanto, embora exista uma preocupação crescente relativamente à exposição humana a altos níveis de arsénio inorgânico através do consumo de água (Ravenscroft *et al.*, 2009), o consumo de arroz é a mais importante fonte de arsénio para a maioria da população mundial (EFSA, 2009; Meharg *et al.*, 2009). Um estudo realizado pela European Food Safety Authority (EFSA) encontrou evidências de que na Europa o consumo de arroz é responsável por mais de 50% da ingestão de arsénio na forma inorgânica (EFSA, 2009). Mesmo em alguns países em que as águas subterrâneas contêm níveis particularmente elevados de arsénio, o consumo diário de arroz tende a contribuir maioritariamente para a ingestão de arsénio, especialmente nos países do Sudeste asiático, em que o arroz é o principal elemento dietético e as fontes de água potável são reduzidas (Kile *et al.*, 2007).

Mesmo em concentrações de arsénio nos solos que correspondem ao fundo geoquímico de uma região (sem influência da atividade antrópica), o arroz aí cultivado pode absorver e acumular arsénio

em quantidades que podem constituir um problema sério para a saúde humana (Meharg *et al.*, 2009), especialmente em exposições prolongadas a fontes com elevada concentração de arsénio, como é o caso da água. Por outro lado, quando o arroz é cultivado em solos naturalmente ricos em arsénio, o nível de arsénio nos grãos pode eventualmente ser ainda mais elevado como resultado da ação antrópica:

- Alagamento/irrigação dos arrozais com água subterrânea (ou outra) que contenha níveis elevados de arsénio – este problema é característico de alguns países asiáticos, como a Índia e o Bangladesh (Meharg & Rahman, 2003; Williams *et al.*, 2006);
- Contaminação dos solos e águas dos arrozais com resíduos industriais ou resultantes da atividade mineira;
- Instalação de arrozais em terrenos previamente tratados com pesticidas ricos em arsénio, como acontece nos Estados Unidos (Williams *et al.*, 2007).

Alguns estudos indicam que cerca de 60 % do arsénio inorgânico, a espécie com maior perigosidade para a saúde humana, presente na dieta europeia provém da ingestão de arroz (EFSA, 2009). De facto, na Europa os grãos de arroz constituem a fonte de arsénio mais preocupante, tendo uma concentração deste elemento cerca de 10 vezes superior à que ocorre noutras culturas, nomeadamente o trigo e a cevada (EFSA, 2009).

A gestão da exposição humana ao arsénio deve assim ter em conta a relação entre a concentração de arsénio na água para consumo e no arroz assim como a forma como podem ser mitigados os riscos de uma ingestão excessiva deste elemento químico com carácter carcinogénico. Por outro lado, a concentração elevada de arsénio em comida para bebés - *baby food* – é especialmente preocupante podendo ser mitigada em grande parte através do planeamento com vista à alocação do arroz com menores concentrações de arsénio para a produção deste tipo de alimento.

O arsénio é um carcinogénio crónico e age como uma toxina de efeito agudo em concentrações elevadas. Segundo a World Health Organization (2004), anos de exposição constante a elevados níveis de arsénio podem levar a uma grande variedade de doenças e condições patogénicas, que incluem bronquite, hipertensão, aborto espontâneo, hiperpigmentação e cancro de pele, bexiga e pulmão. Há evidências de que são as espécies reduzidas de arsénio inorgânico – ou o ciclo redox entre o estado oxidado e o estado reduzido – que conferem ao arsénio a sua carcinogenicidade (WHO, 2004). Embora também possam ocorrer efeitos nefastos devidos ao arsénio em formas orgânicas, ainda é geralmente aceite que as formas inorgânicas são as que apresentam um efeito mais carcinogénico.



A legislação portuguesa (Decreto-Lei nº 306/2007) refere valores máximos recomendados (VMR) e valores máximos admissíveis (VMA) para as concentrações de arsénio em águas destinadas ao consumo humano e águas de rega (VMA: 10 µg As/L nas águas para consumo humano e 10 µg As/L nas águas destinadas à rega). No entanto, no referido Decreto-Lei, também consta a observação de que a toxicidade é variável consoante as culturas e estabelece para o arroz um valor recomendado de 0,05 µg As/L. No entanto, a legislação portuguesa é omissa em relação às concentrações de arsénio nos solos. Kabata-Pendias (2011) situa as concentrações máximas admissíveis para o arsénio no solo para uso agrícola entre 15 e 20 mg As/kg e a legislação do Canadá referente à qualidade do solo para a proteção do ambiente e da saúde humana (CCME, 2007) para todos os usos, incluindo o agrícola indica o valor máximo de 12 mg As/kg.

Os limites legais de arsénio nos produtos alimentares não foram ainda estabelecidos em muitos países, refere-se por isso o exemplo dos limites legais estabelecidos na China (15 mg As/kg de matéria seca; USDA, 2006) e o valor máximo de 1 mg As total/kg definido no Reino Unido (Meharg & Zhao, 2012).

A World Health Organization (WHO, 2004) estabelece uma dose diária máxima permitida de 2,1 µg As/kg/dia. Tanto a União Europeia como a World Health Organization estão presentemente a realizar estudos adicionais que permitam determinar com maior rigor científico limites padrão para a concentração de arsénio inorgânico em produtos alimentares (WHO, 2004).

O arsénio existe numa grande variedade de diferentes espécies químicas em tecidos biológicos, solos, águas e minerais, sendo a maior parte delas inter-convertíveis através de processos bióticos e abióticos verificados em ambientes terrestres ou aquáticos (Cullen & Reimer, 1989).

As diferentes estruturas químicas podem ser inorgânicas (arsenato e arsenito, por exemplo) ou orgânicas como o ácido monometilarsónico (MMA), o ácido dimetilarsínico (DMA) ou a arsenobetaina (AB). As espécies inorgânicas são, geralmente, mais tóxicas que as espécies orgânicas, excetuando alguns compostos intermediários da metilação do arsénio assim como componentes desenvolvidos para utilização em armas biológicas (Arao *et al.*, 2009).

### **1.3. Biogeoquímica dos arrozais**

A concentração de arsénio no arroz é um assunto particularmente problemático dado que o arroz é a única cultura de grande escala para consumo cultivada anaerobicamente, ou seja, sob condições de

alagamento. Este facto, em conjugação com a própria fisiologia da planta, cria as condições para que o arroz seja invulgarmente eficiente na absorção, translocação e assimilação de algumas formas de arsénio no grão (Williams *et al.*, 2007).

Os processos químicos que ocorrem nos arrozais, quer ao nível das águas, quer do solo, facilitam uma excessiva mobilização de arsénio e subsequente absorção deste elemento químico pelo arroz. No entanto, para que ocorram esses processos, o primeiro fator a considerar é a quantidade de arsénio presente, quer no solo, quer nas águas de rega/alagamento. O arsénio presente naturalmente no solo sem pressão antrópica resulta essencialmente do arsénio constituinte das fases sólidas que constituem a rocha-mãe do solo. Os níveis de arsénio na crosta terrestre situam-se abaixo dos 2 mg/kg, podendo no entanto ser bastante superiores a esse valor em rochas ígneas e metamórficas (Smedley & Kinniburgh, 2002). De facto, um grande número de minerais (mais de 200) contem arsénio, sendo a sua meteorização uma fonte importante de arsénio.

As adições difusas de arsénio devidas a resíduos industriais não são normalmente consideradas, mas os seus efeitos não podem ser subestimados, pois que algumas regiões de produção de arroz situam-se a jusante de centros industriais e urbanos importantes e o arroz aí cultivado apresenta elevadas concentrações de arsénio (caso da Camarga, França, com uma média de 0,28 mg As/kg; Meharg *et al.*, 2009).

As espécies inorgânicas, arsenato [As(V)] e arsenito [As(III)], são sensíveis às condições redox: o arsenato predomina geralmente em condições oxidantes e o arsenito em condições redutoras (Zhao *et al.*, 2010). As alterações de pH e de Eh (potencial de redução) são determinantes no balanço entre estas duas espécies, bem como alguns compostos químicos oxidantes ou redutores.

A especiação de arsénio é altamente dinâmica nos arrozais, especialmente devido aos gradientes redox também variarem bastante espacial e temporalmente ao longo da campanha (Takahashi *et al.*, 2004). O regime de alagamento é o fator determinante nestas variações do potencial redox, ao que se soma o gradiente vertical de perfusão de oxigénio atmosférico na coluna de água, e, eventualmente, no solo.

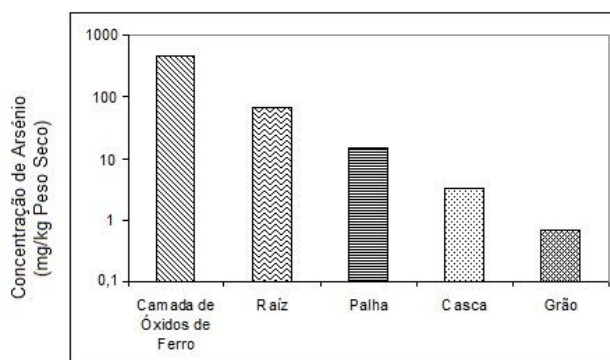
Nos arrozais, o pH dos solos tende a centrar-se em valores próximos da neutralidade após o alagamento, dando-se a redução dos arsenatos antes da redução dos sulfatos. Quando a água dos arrozais é drenada, como é normal na fase de enchimento do grão, as reações anteriormente descritas são invertidas, registando-se a oxidação de Fe(II) e arsenito, com uma acentuada redução da concentração de arsénio dissolvido na água (Arao *et al.*, 2009). Dessa forma, o alagamento e a

consequente alteração das condições redox têm uma importância determinante na disponibilidade de arsénio no meio para a planta.

As espécies arsenato e arsenito, em condições propícias, apresentam capacidades distintas para reagir com várias fases sólidas presentes no solo. Sob condições oxidantes, o arsenato tem uma grande capacidade para reagir com os óxidos/oxihidróxidos de ferro e óxidos de manganês (Chen *et al.*, 2005), dependendo do valor de pH do solo, o que o torna relativamente imóvel no solo pois pode ser adsorvido na superfície daquelas fases sólidas; o arsenito, por sua vez, apresenta menor capacidade de reação com os referidos compostos e é, geralmente, mais móvel. A mobilização de arsénio em condições de alagamento é geralmente acompanhada pela mobilização paralela de ferro (Takahashi *et al.*, 2004).

A escassez de oxigénio ao nível do solo é compensada pelas próprias raízes da planta, que provocam a aeração da sua rizosfera – libertando oxigénio molecular através do aerênquima – para sobreviverem em condições altamente redutoras, criando gradientes redox desde a superfície da raiz ao solo (Chen *et al.*, 2005). Esta aeração vai causar a oxidação do  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  e a consequente precipitação de óxidos e hidróxidos de ferro na superfície da raiz, formando uma placa/camada de ferro com cor alaranjada, que funciona como uma superfície de adsorção para o arsénio.

Assim sendo, a formação desta camada contribui para a diminuição do arsénio disponível no meio – aquando do pleno desenvolvimento da planta. A camada de óxidos de ferro contém, sob a forma adsorvida à superfície, cerca de cinco vezes a quantidade de arsénio presente nos tecidos radiculares. A relação entre as concentrações de arsénio em cada um dos órgãos da planta e na camada dos óxidos de ferro está ilustrada no gráfico da Figura 1.



**Figura 1: Gráfico representativo do gradiente de concentração de arsénio da camada de óxidos de ferro até ao grão de arroz (Meharg, 2012).**

Geralmente o arsénio pode ser associado espacialmente ao ferro num sistema radicular maduro (Seyfferth *et al.*, 2010). A espécie de arsénio mais facilmente adsorvida na placa de ferro é o arsenato (Liu *et al.*, 2006).

As características dos óxidos/hidróxidos de ferro (incluindo o seu grau de cristalinidade) têm uma influência determinante na mobilização do arsénio. Óxidos e hidróxidos de ferro de baixa cristalinidade (como a ferrihidrite) ou os não cristalinos são mais facilmente reduzidos do que as formas cristalinas. Assim, os óxidos/hidróxidos de ferro não cristalinos ou de fraca cristalinidade adsorvem maior quantidade quer de arsenato quer de arsenito do que as formas cristalinas, visto que apresentam maior superfície específica (Dixit & Hering, 2003).

A camada de óxidos de ferro forma-se no apoplasto das células da epiderme das raízes e não penetra para além das células exodermas devido à impermeabilização fornecida pelas bandas de Caspari (Moore *et al.*, 2011). Para além do arsénio, também os fosfatos e o ácido silícico se associam fortemente à camada de óxidos de ferro.

Embora a formação da camada de óxidos de ferro contribua de forma inegável para a adsorção de arsénio, o seu papel na mobilização ou fixação de arsénio não é linear. Se por um lado se constitui como um obstáculo à penetração do arsénio nas células radiculares também acumula em si uma quantidade bastante significativa de arsénio que está sujeita a dessorção – por variados processos – e consequente disponibilização para as plantas. Como exemplo, um aumento da concentração de fosfatos e de matéria orgânica dissolvida pode potencialmente causar a substituição de arsenatos e arsenitos adsorvidos, libertando-os para a solução (Meharg & Zhao, 2012). Por outro lado, segundo os mesmos autores, também o pH pode ter influência na mobilização do arsénio adsorvido.

Relativamente à absorção por parte das plantas, as espécies protonadas de arsénio (hidrogenoarsenito, e MMA, por exemplo) comportam-se como análogos do ácido silícico e o arsenato como um análogo de fosfato (Karim *et al.*, 2009). Por essa razão, a presença de fosfatos suprime a adsorção de arsenatos nos óxidos/hidróxidos de ferro (Dixit & Hering, 2003). No entanto, embora os fosfatos possam inibir a absorção de arsenatos pelas plantas, em solo alagado o efeito dos fosfatos na dessorção de arsenatos das fases sólidas do solo pode provocar o efeito contrário. A maior disponibilidade de arsenatos disponíveis para reação no meio irá provocar uma maior ocorrência de redução a arsenitos, que são eventualmente absorvidos pelas raízes por vias diferentes da via dos fosfatos (Reynolds *et al.*, 1999). Assim, foi demonstrado por Pereya (1991) que adições de fertilizantes ricos em fosfatos levam a uma elevada dessorção de arsenato e uma maior mobilidade do mesmo no solo.

O efeito contrário foi registado em relação ao silício: uma maior disponibilidade deste elemento parece diminuir a acumulação de arsenito pelo arroz, através da concorrência pelas mesmas vias de transporte, nomeadamente os transportadores de ácido silícico (Bogdan & Schenk, 2008).

A acumulação de carbonatos e hidrogenocarbonatos na solução do solo é uma consequência do alagamento dos arrozais e tem efeito na adsorção do arsenato na hematite ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), dependendo de fatores como a superfícies específica, as concentrações iniciais de arsénio e os tempos de reação. No entanto, embora o seu efeito seja identificável, é relativamente pequeno quando comparado com os efeitos dos fosfatos ou do ácido silícico na adsorção de arsenatos e na disponibilidade de arsénio (Bogdan & Schenk, 2009).

A matéria orgânica dissolvida presente no solo pode também competir com o arsénio pelos locais de adsorção e assim aumentar significativamente a mobilidade do arsenato e do arsenito adsorvidos nos óxidos de ferro e noutras fases sólidas dos solos. Esta mobilização é, no entanto, bastante menor do que a resultante do efeito dos fosfatos (Bauer & Blodau, 2006). Outros estudos sugerem que a matéria orgânica dissolvida também influencia a disponibilidade de arsénio através da complexação, podendo complexar direta ou indiretamente os arsenatos e os arsenitos (Buschmann *et al.*, 2006).

#### **1.4.Fisiologia do arroz em relação ao arsénio**

As vias pelas quais o arsénio é transferido dos solos para os grãos de arroz são dinâmicas e complexas, sendo o arsénio presente no arroz dominado pelas espécies inorgânicas e ácido dimetilar-sínico (DMA) (Williams *et al.*, 2005). A proporção relativa destas duas espécies pode variar consideravelmente entre regiões de produção, atuando nesta diferenciação fatores ambientais e genéticos (Williams *et al.*, 2005).

Existe uma grande dificuldade em encontrar uma fórmula simples e fiável de prever a absorção de arsénio pelo arroz, visto que estão envolvidos múltiplos fatores e interações entre eles, sendo o fator temporal – no ciclo do arroz – e espacial – de um ponto para outro do arrozal – difíceis de determinar e quantificar. No entanto, Bogdan & Schenk (2009) propuseram modelos de regressão para prever as concentrações de arsénio no grão e na palha de arroz através da concentração total de arsénio e da concentração de fósforo disponível no solo (com efeito positivo) assim como de óxidos de ferro não cristalinos (com efeito negativo), com uma variância entre 37 e 77 %.

Da mesma forma que as condições redox influenciam a disponibilidade de arsénio no meio, estas também afetam diretamente a capacidade das plantas de o absorverem. Xu *et al.* (2008) mostraram

que plantas de arroz desenvolvidas em meio anaeróbico – em condições de alagamento – contêm 7 a 35 vezes maior concentração de arsênio na palha e 10 a 15 vezes maior concentração no grão do que plantas crescidas em solo relativamente seco. Por outro lado, a introdução de um período de condições aeróbicas no ciclo normal do cultivo do arroz mostrou-se eficaz na redução da absorção de arsênio (Arao *et al.*, 2009).

Os processos envolvidos na absorção de arsênio pelo arroz foram bastante estudados nos últimos anos (Arao *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2010; Panaullah *et al.*, 2009), embora ainda existam questões no que diz respeito à sua translocação para os órgãos superiores da planta e, em especial, o grão.

As raízes da planta do arroz absorvem espécies de arsênio através das vias de absorção do ácido silícico (arsenito e outras espécies protonadas) e das vias de transporte dos fosfatos (arsenato), como mencionado anteriormente. O arroz, como acumulador de silício, é especialmente eficiente na absorção de ácido silícico e fosfatos do meio, o que o torna também eficiente na absorção de análogos de arsênio. A grande diferença do arroz para outras plantas em relação ao conteúdo em arsênio deriva essencialmente desta eficiência incomum, em conjugação com a mobilidade do arsenito em condições redutoras, e portanto, a maior disponibilidade de arsênio em estado livre nas condições normais de alagamento da cultura (Zhao *et al.*, 2010).

Sendo o arsenato um análogo químico do fosfato, os transportadores de membrana das plantas não distinguem as duas moléculas o que resulta na absorção de arsenato. Existem estudos que demonstram que concentrações adicionais de fosfatos em várias culturas resultam numa supressão da absorção de arsenato por competição (Abedin *et al.*, 2002). No entanto, plantas que passaram por escassez de fosfatos numa fase inicial do seu desenvolvimento tendem a absorver mais fosfatos e arsenatos numa fase posterior (Wang *et al.*, 2002).

A absorção dos arsenitos, predominantes nas condições anaeróbicas dos arrozais alagados, assume grande importância nestes sistemas. Os transportadores destas espécies parecem ser NIPs (Nodulin 26-like Intrinsic Proteins), uma espécie de aquaporinas vegetais permeáveis a várias moléculas neutras, como a ureia e o ácido silícico (Wallace *et al.*, 2006). A localização polarizada destas aquaporinas no arroz parece ser o fator decisivo para a sua grande eficiência na acumulação de silício através da absorção do ácido silícico (Mitani *et al.*, 2009). Esta eficiência permite, por sua vez, encontrar no arroz uma apetência única para a absorção de arsenitos, já que estes funcionam como análogos do ácido silícico. Bogdan & Schenk (2008) obtiveram correlações negativas entre as concentrações de arsênio no grão e as de silício disponível nos solos, o que corrobora a teoria de que as duas espécies partilham as mesmas vias de transporte. A capacidade do arroz de reduzir rapidamente o arsenato para arsenito conjugada com a ocorrência natural deste processo de

redução no meio anaeróbico, aumenta a importância relativa deste processo para a acumulação de arsénio no grão.

Uma vez no interior da planta, as espécies de arsénio sofrem processos de metabolização, complexação, transporte simplástico e transporte através do xilema para a parte aérea. Relativamente ao teor de arsénio no grão de arroz, a translocação de arsénio da parte vegetativa para o grão efetuada através do floema durante a fase de enchimento do grão constitui o processo fulcral. O estudo aprofundado dos mecanismos de regulação deste processo é dificultado pela ação toxicológica do arsénio, que se exprime através da inibição da formação de ATP e de vários outros processos de fosforilação, stress oxidativo e ligação indesejada a proteínas, entre outros (Meharg & Hartley-Whitaker, 2002). Todos estes efeitos tóxicos levam a uma redução na produção uma vez que o crescimento do arroz é inibido por concentrações superiores a 15 mg As/kg, surgindo sintomas de toxicidade severa em solos com 60 mg As/kg (Khan *et al.*, 2010), o que torna ainda mais preocupante no foro agrícola a questão do arsénio nos arrozais (Panauallah *et al.*, 2009).

A importância das condições profundamente redutoras (alagamento) como fator essencial que desencadeia a acumulação de arsénio pelo arroz realça a importância de uma gestão adequada da água na prevenção deste problema (Arao *et al.*, 2009).

Como descrito, o metabolismo celular da planta do arroz é afetado pela toxicidade das várias formas de arsénio. Enquanto o arsenato interfere nas reações bioquímicas de formação das moléculas de ATP, o arsenito apresenta grande afinidade para os grupos –tiol, podendo interferir, por exemplo, no ciclo de formação do ácido tricarboxílico (TCA).

Embora a instabilidade genómica seja expectável em tecidos com concentrações elevadas de arsénio, este efeito tem sido muito pouco estudado. Uma quantidade relativamente baixa de trabalhos focam-se no estudo da toxicidade do arsénio em células vegetais, como é o exemplo de Wu *et al.* (2009) que utilizaram material radicular de *Allium* e *Vicia*. Segundo Bhattacharjee *et al.* (2013) a instabilidade genómica induzida pelo arsénio envolve essencialmente instabilidades cromossómicas associadas a erros na mitose e instabilidade de microssatélites. Esta instabilidade depende de múltiplos fatores endógenos e exógenos e envolve várias vias celulares. O stress oxidativo gerado pelo arsénio e pelos seus metabolitos induz a ocorrência de danos no ADN, disfunções teloméricas, paragens mitóticas e apoptose. Paralelamente, a concentração elevada de arsénio também interfere na regulação epigenética. Da mesma forma, as mutações ocorridas em genes pro-apoptóticos podem levar à sobrevivência de células inviáveis (revisão em Bhattacharjee *et al.*, 2013).

**Os dados obtidos no trabalho que deu origem à presente Dissertação de Mestrado têm caráter confidencial, pelo que as metodologias utilizadas e os resultados obtidos não constam do mesmo.**



## **Conclusão**

Os parâmetros que apresentaram correlações significativas com a concentração de arsénio no grão no presente estudo foram o arsénio na fração disponível, o carbono orgânico e a matéria orgânica no solo, todos eles com correlação positiva. A concentração de arsénio adsorvido e/ou co-precipitado nos óxidos de ferro não cristalinos e as concentrações totais de arsénio no solo e na água não apresentaram correlações significativas com a concentração de arsénio no grão. A bibliografia não é unânime em relação aos fatores determinantes para a acumulação de arsénio no grão, existindo mesmo estudos que se contradizem em algumas conclusões: os valores e correlações encontrados são assim uma contribuição para o conhecimento das dinâmicas do arsénio nos arrozais, especialmente nas condições existentes nas regiões analisadas.

As concentrações de arsénio encontradas nos grãos de arroz analisados não apresentam risco para a saúde humana para adultos, à exceção do lote que apresenta a maior concentração de arsénio no grão, superior ao limite de perigosidade relativamente à dose média de ingestão de arroz em Portugal. Foi também em células de ápices radiculares deste lote que se observaram algumas alterações citogenéticas afetando o ciclo celular e a organização da cromatina.

## Referências Bibliográficas

- Abedin MJ, Feldmann J, Meharg AA (2002) Uptake kinetics of arsenic species in rice plants. *Plant Physiol* 128:1120-1128
- Arao T, Maejima Y, Koji B (2009) Uptake of aromatic arsenicals from soil contaminated with diphenylarsinic acid by rice. *Environ Sci Technol* 43:1097-1101
- Bauer M, Blodau C (2006) Mobilization of arsenic by dissolved, colloidal and particulate size fraction of experimental solutions rich in dissolved organic matter and ferric iron. *Geochim Cosmochim Acta* 73:529-542
- Bhattacharjee P, Banerjee M, Giri A (2013) Role of genomic instability in arsenic-induced carcinogenicity. A review. *Environ Intern* 53:29-40
- Buschmann J, Kappeler A, Lindauer U, Kistler D, Berg M, Sigg L (2006) Arsenite and arsenate binding to dissolved humic acids: influence of pH, type of humic acid, and aluminium. *Environ Sci Technol* 40:6015-6020
- CCME – Canada Council of Ministers of the Environment. (2007) Canadian soil quality guidelines for the protection of environmental and human health: Summary tables (updated September, 2007). CCME, Winnipeg, Canada
- Chen Z, Zhu YG, Liu WJ, Meharg AA (2005) Direct evidence showing the effects of root surface iron plaque on arsenite and arsenate uptake into rice (*Oryza sativa*) roots. *New Phytol* 165:91-97
- Cullen WR, Reimer KJ (1989) Arsenic speciation in the environment. *Chem Ver* 89:713-764
- Decreto-Lei n° 236/98. Diário da República, I Série -A n° 176/98 de 1 de Agosto de 1998: 3676–3721
- Decreto-Lei n.º 306/2007. Diário da República, 1.ª série — N.º 164 — 27 de Agosto de 2007
- Dixit S, Hering JG (2003) Comparison of arsenic(V) and arsenic (III) sorption onto iron oxide minerals: implications for arsenic mobility. *Environ Sci Technol* 31:315-320
- EFSA (2009) Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)/Scientific opinion on arsenic in food. *EFSA J* 7:1351
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2004) Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/336/DesktopDefault.aspx?PageID=336> (Acedido Junho 2013)
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2012) Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (Acedido Junho 2013)
- INIA – LQARS (2000) Manual de Fertilização das culturas. Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva (Ed.), Lisboa
- Kabata-Pendias A (2011) Trace Elements in Soils and Plants. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton
- Karim A, Raab A, Feldmann J, Ghaderian SM, Meharg AA (2009) An arsenic accumulating, hyper-tolerant brassica, *Isatis capadocica* Desv. *New Phytol* 184:41-47
- Khan MA, Stroud JL, Zhu YG, McGrath SP, Zhao FJ (2010) Arsenic bioavailability to rice is elevated in Bangladeshi paddy soils. *Environ Sci Technol* 44:8515-8521
- Kile ML, Houseman EA, Breton CV, Smith T, Quamruzzaman Q, Rahman M, Mahiuddin G, Christian DC (2007) Dietary arsenic exposure in Bangladesh. *Environ Health Perspect* 115:889-893
- Kirk G (2004) The biogeochemistry of submerged soils. Wiley, Chichester

- Liu WJ, Zhu YG, Hu Y, Williams PN, Gault AG, Meharg AA, Charnock JM, Smith FA (2006) Arsenic sequestration in iron plaque, its accumulation and speciation in mature rice plants (*Oryza sativa* L.). *Environ Sci Technol* 40:5730-5736
- Meharg AA (2007) Arsenic in rice – a literature review. Food Standards Agency, contract C101045
- Meharg AA, Hartley-Whitaker J (2002) Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytol* 154:29-43
- Meharg AA, Rahman Md M (2003) Arsenic contamination of Bangladesh paddy field soils: implications for rice contribution to arsenic consumption. *Environ Sci Technol* 37:229-234
- Meharg AA, Williams PN, Adamako E, Lawgali YY, Deacon C, Villada A, Cambell RCJ, Sun GX, Zhu YG, Feldmann J, Raab A, Zhao FJ, Islam R, Hossain S, Yanai J (2009) Geographical variation in total and inorganic arsenic content of polished (white) rice. *Environ Sci Technol* 43:1612-1617
- Meharg AA, Zhao FJ (2012) *Arsenic and Rice*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York
- Mitani N, Chiba Y, Yamagi N, Ma JF (2009) Identification and characterization of maize and barley Lsi2-like silicon efflux transporters reveals a distinct silicon uptake system from that in rice. *Plant Cell* 21:2133-2142
- Moore KL, Schroder M, Wu ZC, Martin BGH, Hawes CR, McGrath SP, Hawkesford MJ, Ma JF, Zhao FJ, Grovenor CRM (2011) NanoSIMS analysis reveals contrasting patterns of arsenic and silicon localization in rice roots. *Plant Physiol* 156:913-924
- Panaullah GM, Alam T, Hossain MB, Loeppert RH, Lauren JG, Meisner CA, Ahmed ZU, Duxbury JM (2009) Arsenic toxicity to rice (*Oryza sativa* L.) in Bangladesh. *Plant Soil* 317:31-396
- Pereya FJ (1991) Phosphate-induced release of arsenic from soils contaminated with lead arsenate. *Soil Sci Soc Am J* 55:1301-1306
- Ravenscroft R, Brammer H, Richards K (2009) *Arsenic pollution, a global synthesis*, RGS-IBG book series. Wiley-Blackwell, Oxford
- Reynolds JG, Naylor DV, Fendorf SE (1999) Arsenic sorption in phosphate-amended soils during flooding and subsequent aeration. *Soil Sci Soc Am J* 63:1149-1156
- Seyfferth AL, Webb SM, Andrews JC, Fendorf S (2010) Arsenic localization, speciation, and co-occurrence with iron on rice (*Oryza sativa* L.) roots having variable Fe coatings. *Environ Sci Technol* 44:8108-8113
- Smedley PL, Kinniburgh DG (2002) A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Appl Geochem* 17:517-568
- Sun GX, Williams PN, Deacon C, Meharg AA (2009) Survey of arsenic and its speciation in cereal rice products. *Environ Int* 35:473-475
- Takahashi Y, Minamikawa R, Hattori KH, Kurishima K, Kihou N, Yuita K (2004) Arsenic behavior in paddy fields during the cycle of flooded and non-flooded periods. *Environ Sci Technol* 38:1038-1044
- USDA (2006) Foreign Agricultural Service Global Agriculture Information Network Report CH6064. Peoples Republic of China, FAIRS Product Specific Maximum Levels of Contaminants in Foods
- Vogel A, Jeffery GH, Bassett J, Mendham J, Denney RC (1989) *Textbook of Quantitative Chemical Analysis*. Longman Scientific & Technical, Great Britain
- Wallace IS, Choi WG, Roberts DM (2006) The structure, function and regulation of the nodulin 26-like intrinsic protein family of plant aquaglyceroporins. *Biochim Biophys Acta* 1758:1165-1175

- Wang JR, Zhao FJ, Meharg AA, Raab A, Feldmann J, McGrath SP (2002) Mechanisms of arsenic hyoperaccumulation in *Pteris vittata*. Uptake kinetics, interactions with phosphate, and arsenic speciation. *Plant Physiol* 130:1552-1561
- Williams PN, Islam MR, Adomako EE, Raab A, Hossain SA, Zhu YG, Feldmann J, Meharg AA (2006) Increase in rice grain arsenic for regions of Bangladesh irrigating paddies with elevated arsenic in groundwaters. *Environ Sci Technol* 40:4903-4908
- Williams PN, Price AH, Raab A, Hossain SA, Feldmann J, Meharg AA (2005) Variation in arsenic speciation and concentration in paddy rice related to dietary exposure. *Environ Sci Technol* 39:5531-5540
- Williams PN, Raab A, Feldmann J, Meharg AA (2007) Market basket survey shows elevated levels of As in South Central US processed rice compared to California: consequences for human dietary exposure. *Environ Sci Technol* 41:2178-2183
- World Health Organization (2004) IARC, Working Group on some drinking water disinfectants and contaminants, including arsenic, vol 84 Lyon. Monograph 1
- Wu L, Yi H, Yi M (2009) Assessment of arsenic toxicity using *Allium/Vicia* root tip micronucleus assays. *Journal of hazardous materials* 176 (1-3): 952-6
- Xu XY, McGrath SP, Meharg A, Zhao FJ (2008) Growing rice aerobically markedly decreases arsenic accumulation. *Environ Sci Technol* 42:5574-5579
- Zhao FJ, McGrath SP, Meharg AA (2010) Arsenic as a food-chain contaminant: mechanisms of plant uptake and metabolism and mitigation strategies. *Annu Rev Plant Biol* 61:7.1-7.25

